

PREUČEVANJE FUNGICIDNEGA DELOVANJA PROPOLISA NA POVZROČITELJA ČRNE LISTNE PEGAVOSTI KROMPIRJA (*Alternaria solani*) IN KROMPIRJIVE PLESNI (*Phytophthora infestans*) V POLJSKIH RAZMERAH

Tanja BOHINC¹, Filip VUČAJNK², Aleš PLUT³, Stanislav TRDAN⁴

¹Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

²Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

V letih 2015 in 2016 smo v poljskih poskusih na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani preučevali fungicidno delovanje propolisa na črno listno pegavost krompirja (*Alternaria solani*) in krompirjevo plesen (*Phytophthora infestans*). Poskus je potekal v treh blokkih, znotraj katerih smo naključno razporedili 4 obravnavanja, in sicer propolis v višji koncentraciji (10 ml/1 l vode), propolis v nižji koncentraciji (5 ml/ 1 l vode), pozitivno (sintetični fungicidi) in negativno kontrolo (neškropljeno). V obeh letih smo krompir s propolisom poškopili šestkrat v rastni dobi. Ocenjevanje indeksa okužbe s črno listno pegavostjo in krompirjevo plesnijo smo izvedli z modificirano 6-stopenjsko lestvico EPPO. V letu 2015 smo ocenjevanje stopnje okužbe z glivo *Alternaria solani* izvedli v štirih terminih, v letu 2016 pa smo ocenjevanje stopnje okužbe z obema glivama izvedli v šestih terminih. V obeh letih poskusa se je na krompirju pojavila črna listna pegavost krompirja, a indeks okužbe tudi na neškropljenih rastlinah v obdobju intenzivne rast ni presegal 3,5 (približno 15 % okužene listne površine). Ugotavljamo, da je propolis v prvem letu poskusa pokazal nekoliko slabše fungicidno delovanje od sintetičnih fungicidov, v drugem letu poskusa pa je bila njegova učinkovitost primerljiva s sintetičnimi fungicidi. V letu 2016 je bilo v obeh obravnavanjih, kjer smo uporabili propolis, indeks okužbe s krompirjevo plesnijo signifikantno manjši kot v negativni kontroli in primerljiv s pozitivno kontrolo. Rezultati raziskave kažejo obetavne rezultate delovanja propolisa na povzročiteljici črne listne pegavosti krompirja in krompirjeve plesni, vendar pa bo potrebno njegovo učinkovitost preveriti še v razmerah močnejše okužbe, saj sta se obe glivične bolezni v letih naše raziskave pojavljali v relativno majhnem obsegu.

Ključne besede: črna listna pegavost, krompirjeva plesen, propolis, ekološki fungicidi

ABSTRACT

¹ asist. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: tanja.bohinc@bf.uni-lj.si

² doc. dr., prav tam

³ mag. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

⁴ prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

FIELD TESTING OF FUNGICIDAL EFFICACY OF PROPOLIS ON EARLY BLIGHT OF POTATO (*Alternaria solani*) AND LATE BLIGHT OF POTATO (*Phytophthora infestans*)

During 2015 and 2016, field experiment was performed to evaluate fungicidal efficacy of Propolis on early blight (*Alternaria solani*) and late blight (*Phytophthora infestans*) on potato at the Laboratory Field of Biotechnical Faculty in Ljubljana. Field trial was performed in three blocks, which were divided into 4 treatments (Propolis in higher dose – 10 ml/1 l of water, Propolis in lower dose – 5 ml/1 l of water, positive (synthetic fungicides) and negative control (non-treated plants). Spraying with Propolis was performed for six times per growing season. Severity index of infection caused by early and late blight was evaluated according to 6-grade EPPO evaluation scale. In 2015, severity index of early blight infection was evaluated four times, meanwhile severity indices of early and late blight infection were evaluated six times in 2016. Early blight was detected in both experimental years, but even on non-treated plants severity index did not exceed 3.5 index level (app. 15 % of infected leaf area) during intensive plant growth. We have established lower efficacy of Propolis in the first experimental year, meanwhile it's efficacy was comparable to synthetic fungicides in second experimental year. In 2016 severity index of late blight was lower on plants treated with Propolis (both concentrations) in comparison to negative control, and could be compared to positive control. Results of our research have demonstrated promising fungicidal activity of propolis on pathogens that cause early and late blight on potato, however additional tests should be performed in conditions with severe infection with both pathogens. Occurrence of both fungal pathogens was relatively low in both experimental years.

Key words: early blight, late blight, Propolis, natural fungicides

1 UVOD

Gliva *Phytophthora infestans*, ki povzroča krompirjevo plesen, spada med gospodarsko pomembnejše bolezni na krompirju (Saville *et al.*, 2016), črna listna pegavost (*Alternaria solani*) pa je druga najpomembnejša bolezen, ki prizadene nadzemske dele krompirja (Haynes in Qu, 2016). Pri zmanjševanju obsega okužbe z navedenima glivičnima boleznima si lahko pomagamo s sintetičnimi fungicidi, a moramo biti pri njihovi uporabi pazljivi, saj so že poročali o pojavu rezistence obeh vrst gliv na fungicide (Elansky *et al.*, 2008; Ojeda-Contreras *et al.*, 2008; Landschoot *et al.*, 2017).

V ekološki pridelavi krompirja si pri zmanjševanju škodljivosti obravnavanih gliv lahko pomagamo z bakrenimi pripravki, rastnimi regulatorji (Tehnološka navodila za ekološko..., 2017) oziroma različnimi pripravki, za katere strokovna literatura navaja protimikrobno delovanje. Yusuf *et al.* (2005) poročajo o uspešnem delovanju propolisa na krompirjevo plesen v laboratorijskih razmerah, namen naše raziskave pa je bil preučiti fungicidno delovanje propolisa na črno listno pegavost in krompirjevo plesen na krompirju v poljskih razmerah.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Zasnova poskusa in izbira pripravkov

Dveletni poljski poskus (2015-2016) je potekal na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani. V prvem letu raziskave je površina, kjer smo izvajali poskus, merila 522 m², v drugem letu poskusa pa 421,2 m². V prvem letu smo v poskus vključili sorto 'Labadia', v drugem letu pa smo poskus izvajali na sorti 'Bonnata'. Poskusno površino smo v obeh letih poskusa razdelili na tri bloke, znotraj katerih smo naključno razporedili 4 obravnavanja, in sicer propolis v višji koncentraciji (10 ml propolisa/1 liter vode), propolis v nižji koncentraciji (5 l propolisa/1 liter vode), pozitivno in negativno kontrolo.

V prvem letu poskusa smo uporabili tinkturo propolisa, ki je bila pridelana v družinskem čebelarstvu Plut s Krvavčjega Vrha v občini Semič. V drugem letu raziskave smo uporabili ekstrakt propolisa (angl.: propolis glycolic extract) (distributer: BNATURAL, Corbetta, Italija). Omenjeni pripravek vsebuje 20 % naravnega propolisa. V prvem in drugem letu poskusa smo s propolisom škropili v šestih različnih terminih. Rastline pozitivne kontrole smo škropili z registriranimi fungicidi za zmanjševanje okužbe s črno listno pegavostjo in krompirjevo plesnijo.

2.2 Ocenjevanje okužbe

Ocenjevanje indeksa okužbe s črno listno pegavostjo in krompirjevo plesnijo smo izvedli z modificirano 6-stopenjsko lestvico EPPO (OEPP/EPPO, 1997). Ocena 1 predstavlja rastlino brez okužbe, ocena 2 predstavlja od 1 do 5 % okužene listne površine, ocena 3 predstavlja od 6 do 10 % okužene listne površine, ocena 4 predstavlja od 11 do 20 % okužene listne površine, ocena 5 predstavlja od 21 do 50 % okužene listne površine, ocena 6 pa več kot 50 % okužene listne površine.

V letu 2015 smo ocenjevanje stopnje okužbe z glivo *Alternaria solani* izvedli v štirih terminih, v letu 2016 pa ocenjevanje stopnje okužbe z obema glivama v šestih terminih. V pozitivni kontroli smo uporabili sintetične fungicide, ki jih najdemo med dovoljenimi fitofarmacevtskimi pripravki.

2.3 Statistična analiza podatkov

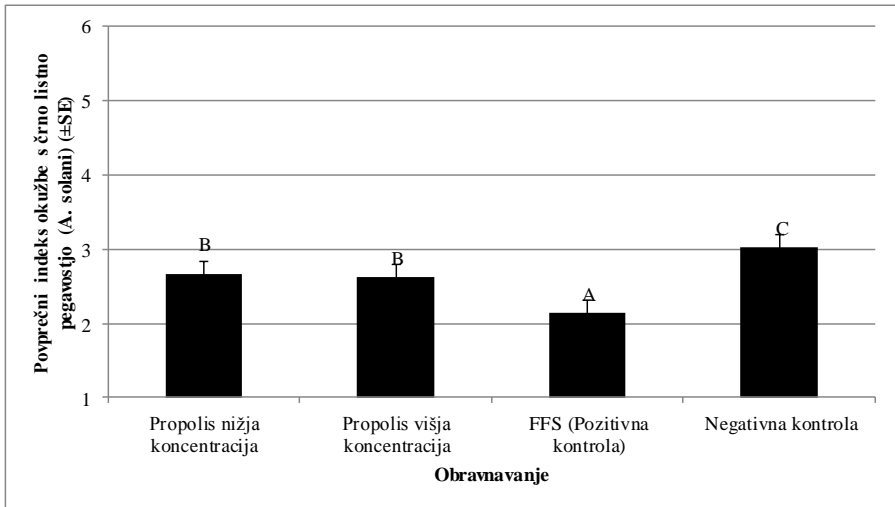
Rezultate poskusa smo statistično ovrednotili s programom Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Centurion, 2009). Razlike v pridelku med obravnavanji in posameznimi frakcijami smo ovrednotili z analizo variance (ANOVA) in Student Newman Keulsovimi preizkusom mnogoterih primerjav ($P \leq 0,05$).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Povprečni indeks okužbe s črno listno pegavostjo v letu 2015

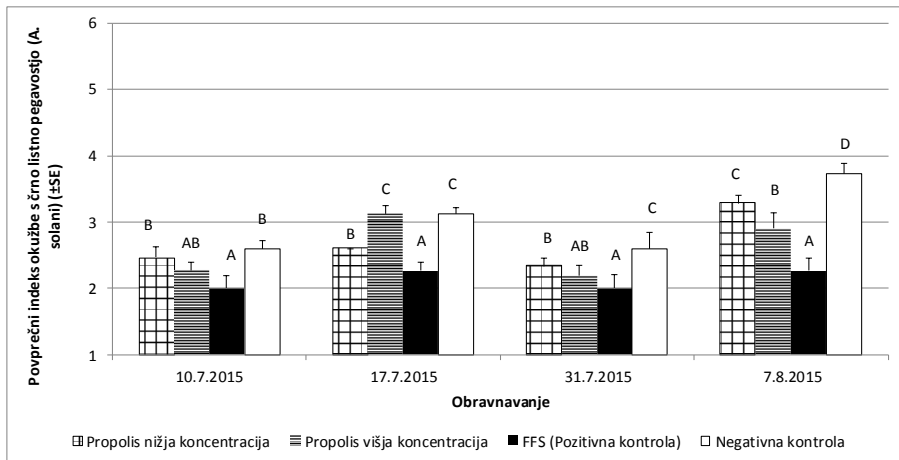
Povprečni indeks okužbe s črno listno pegavostjo je bil signifikantno najvišji na rastlinah, ki so bile del negativne kontrole ($3,01 \pm 0,05$), medtem ko je bil povprečni indeks na rastlinah, ki so bile škropljenje s fungicidi, signifikantno najnižji ($2,13 \pm 0,02$). Med rastlinami, ki so bile tretirane z nižjo koncentracijo propolisa

($2,66 \pm 0,03$) in višjo koncentracijo propolisa ($2,62 \pm 0,04$) nismo ugotovili statistično značilnih razlik (slika 1).



417

Slika 1: Povprečni indeks okužbe s črno listno pegavostjo na listih krompirja v letu 2015 (črke prikazujejo statistično značilne razlike med posameznimi obravnavanji).



Slika 2: Povprečni indeks okužbe s črno listno pegavostjo glede na datum ocenjevanja v letu 2015 (črke prikazujejo razlike znotraj datuma ocenjevanja med obravnavanji).

Na rastlinah, ki smo jih škropili s fungicidi, smo v prvem terminu ocenjevanja ugotovili med 1 in 5 % okužene listne površine. V zadnjem terminu ocenjevanja je

povprečni obseg okužbe v pozitivni kontroli znašal več kot 5 % okužene listne površine. V negativni kontroli je bil povprečni indeks okužbe signifikantno najvišji v zadnjem terminu ocenjevanja, in sicer $3,73 \pm 0,15$. Povprečni indeks okužbe je na rastlinah, ki so bile škropljene s propolisom v nižji koncentraciji znašal od $2,46 \pm 0,16$ v prvem terminu ocenjevanja (10.7.2015) do $3,28 \pm 0,12$ v zadnjem terminu ocenjevanja (7.8.2015). Na rastlinah, ki smo jih škropili s propolisom v višji koncentraciji, smo v prvem terminu ocenjevanja zabeležili $2,27 \pm 0,12$ okužene listne površine, v zadnjem terminu ocenjevanja pa $2,9 \pm 0,24$ okužene listne površine (slika 2).

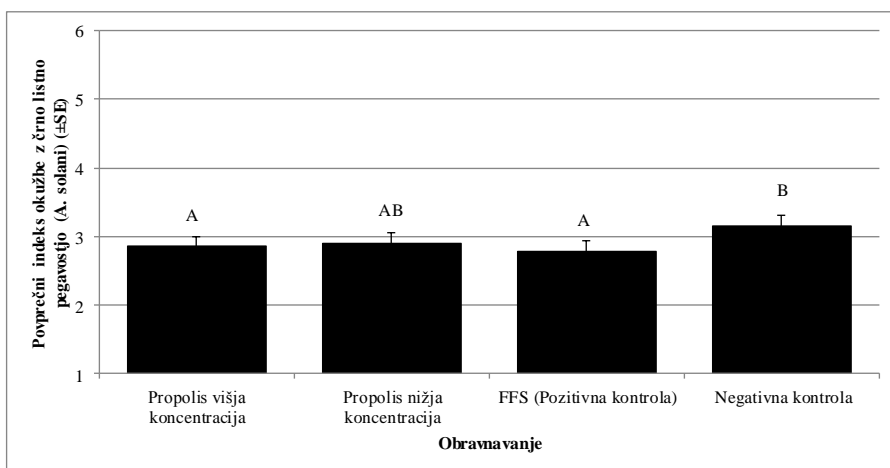
3.2 Povprečni indeks okužbe s črno listno pegavostjo v letu 2016

V drugem letu poskusa smo signifikantno najvišji povprečni indeks okužbe zabeležili na rastlinah negativne kontrole ($3,15 \pm 0,14$), medtem ko med rastlinami, ki so bile škropljene z propolisom v višji koncentraciji ($2,85 \pm 0,14$) in rastlinami, ki so bile škropljene s fungicidi ($2,77 \pm 0,15$) nismo ugotovili signifikantnih razlik (slika 3).

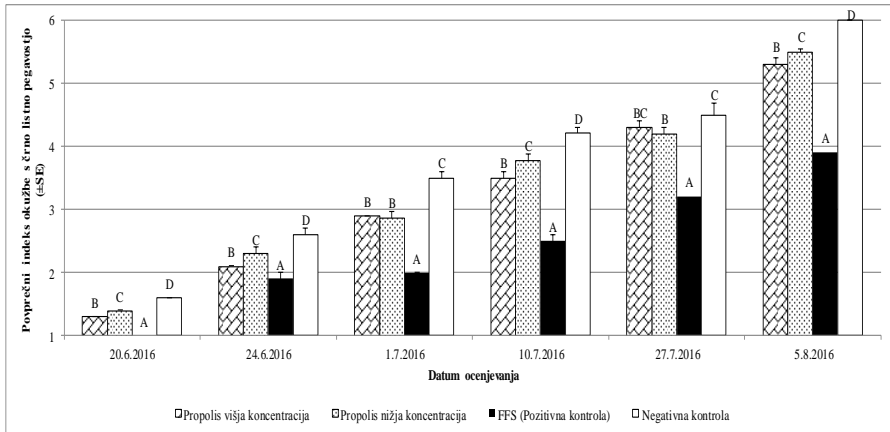
V vseh terminih ocenjevanja je bil obseg okužbe s črno listno pegavostjo signifikantno najnižji na rastlinah, ki smo jih škropili s fungicidi. Na neškropljenih rastlinah (kontrolnih rastlinah) je bil obseg okužbe v vseh terminih signifikantno najvišji. V zadnjem terminu ocenjevanja je dosegel že povprečni indeks $6,0 \pm 0,0$.

Povprečni indeks okužbe s *A. solani* je na rastlinah škropljenjih z višjo koncentracijo propolisa znašal od $1,3 \pm 0,0$ v prvem terminu ocenjevanja (20.6.) do $5,3 \pm 0,11$ v zadnjem terminu ocenjevanja. Na rastlinah, ki so bile škropljene s propolisom v nižji koncentraciji smo zabeležili povprečni indeks od $1,40 \pm 0,0$ (v prvem terminu ocenjevanja) do $5,5 \pm 0,1$ (v zadnjem terminu ocenjevanja) (slika 4).

418



Slika 3: Povprečni indeks okužbe s črno listno pegavostjo v letu 2016 (±SE) (črke prikazujejo statistično značilne razlike med posameznimi obravnavanji).

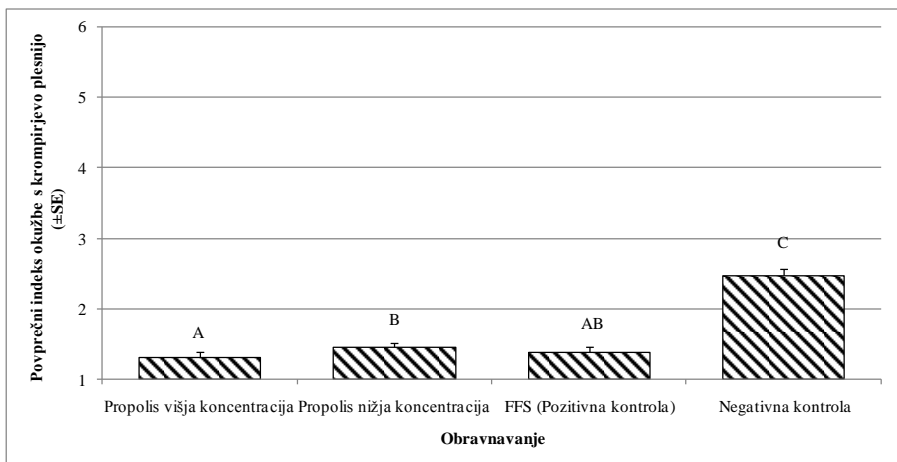


Slika 4: Povprečni indeks okužbe s črno listno pegavostjo glede na datum ocenjevanja v letu 2016 (velike črke prikazujejo razlike znotraj datuma ocenjevanja med obravnavanji).

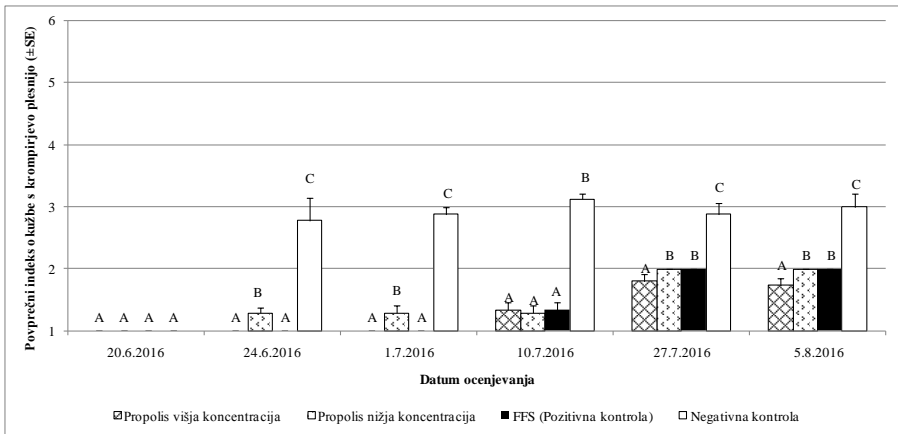
3.3 Povprečni indeks okužbe s krompirjevo plesnijo v letu 2016

419

Povprečni indeks okužbe je na rastlinah, ki so bile škropljene s propolisom v višji koncentraciji, znašal $1,31 \pm 0,07$; na rastlinah, ki so bile škropljene z nižjo koncentracijo propolisa je povprečni indeks znašal $1,46 \pm 0,03$; medtem ko smo na rastlinah negativne kontrole ugotovili obseg okužbe, ki je znašal $2,47 \pm 0,09$ (slika 5).



Slika 5: Povprečni indeks okužbe s krompirjevo plesnijo po posameznih obravnavanjih v letu 2016 (velike črke prikazujejo signifikantne razlike med obravnavanji).



Slika 6: Povprečni indeks okužbe s krompirjevo plesnijo glede na datum ocenjevanja v letu 2016 (velike črke prikazujejo razlike znotraj datuma ocenjevanja med obravnavanji).

420

Prvi pojav okužbe s krompirjevo plesnijo smo 24. junija ugotovili na nekaterih rastlinah negativne kontrole, kjer je obseg okužbe znašal $2,78 \pm 0,36$ ter na rastlinah, ki so bile škropljene s propolisom v nižji koncentraciji, kjer je obseg okužbe znašal $1,23 \pm 0,1$. Povprečni indeks okužbe je signifikantno najvišji na kontrolnih rastlinah, v vseh obravnavanih terminih.

V zadnjem terminu ocenjevanja je povprečni indeks okužbe na rastlinah, ki so bile škropljene s propolisom v višji koncentraciji znašal $1,73 \pm 0,11$, medtem ko smo na rastlinah, ki so bile škropljene s fungicidi, zabeležili povprečni indeks, ki je znašal $2,0 \pm 0,0$ (slika 6).

Rezultati naše raziskave kažejo zelo nizek indeks okužbe z obema preučevanima povzročiteljima bolezni krompirja, saj v času intenzivne rasti (konec junija – začetek julija) v obeh letih poskusa ni presegel 20 % okužene listne površine. V zadnjem terminu ocenjevanja pa smo le na kontrolnih rastlinah v drugem letu poskusa ugotovili najvišji odstotek okužene listne površine s črno listno pegavostjo, medtem ko okuženost rastlin z krompirjevo plesnijo ni dosegla najvišje stopnje.

Gre za prvo raziskavo preučevanja delovanja propolisa v poljskih razmerah, s katero smo dokazali, da je pri nizkem indeksu okužbe z krompirjevo plesnijo in črno listno pegavostjo delovanje propolisa primerljivo z uporabo sintetičnih fungicidov. Kot je znano, lahko uporaba fungicidov na podlagi bakra povzroči fitotoksične učinke (Petit *et al.*, 2012) in prav omenjeni fungicidi so med najpogosteje uporabljenimi v ekološki pridelavi krompirja. V dosedanjih raziskavah fitotoksičnosti propolisa niso potrdili.

4 SKLEPI

Delovanje propolisa na črno listno pegavost krompirja in krompirjevo plesen je bilo primerljivo z delovanjem sintetičnih fungicidov. Ugotavljamo, da bi bilo smiselno z

raziskavo še nadaljevati, predvsem, da bi preučili učinkovitost propolisa v idealnih razmerah za širjenje okužbe s preučevanima glivama.

5 ZAHVALA

Za tehnično pomoč pri poskusu se zahvaljujemo Jaki Rupniku.

6 LITERATURA

- Elansky, S.N., Pobedinskaya, M.A., Kokaeva, L.Y., Statsyuk, N.V., Dyakov, Y.T. 2015. *Phytophthora infestans* populations from European part of Russia: genotypic structure and metalaxyl resistance. *Journal of Plant Pathology*. 97: 449-456.
- Haynes, K.G., Qu, X.S. 2016. Late blight and early blight resistance from *Solanum hougasii* introgressed into *Solanum tuberosum*. *American Journal of Potato Research*.
- Landschoot, S., Carrette, J., Vandecasteele, M., De Baets, B., Hofte, M., Audenaert, K., Haesaert, G. 2017. Boscalid-resistance in *Alternaria alternata* and *Alternaria solani* populations: an emerging problem in Europe. *Crop Protection*. 92: 49-59.
- Meteo.si. 2017. Uradna vremenska napoved za Slovenijo. Agencija Republike Slovenije za okolje. MOP.
<http://www.meteo.si/met/sl/app/webmet/#webmet==8Sdwx2bhR2cv0WZ0V2bvEGcw9ydlJWbIR3LwVnaz9SYtVmYh9iclFGbt9SaulGdugXbsx3cs9mdl5WahxXYyNGapZXZ8tHzv1WYp5mOnMHbvZXZulWYnwCchJXYtVGdJnOn0UQQdSf> (31.7.2017)
- OEPP/EPPO, 1997. EPPO Standards. Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products. *Fungicides and Bactericides*. 2:4-7.
- Petit, A.N., Fontaine, F., Vatsa, P., Clement, C., Vaillant-Gaveau, N. 2012. Fungicide impacts on photosynthesis in crop plants. *Photosynthesis research*. 111:315-326.
- Saville, A.C., Martin, M.D., Ristaino, J.B. 2016. Historic late blight outbreaks caused by a widespread dominant lineage of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Plos One*. Doi: 10.1371/journal.pone.0168381
- Tehnološka navodila za ekološko pridelavo poljščin. 2017. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. 2017.
https://www.program-podezelja.si/images/SPLETNA_STRAN_PR_PNOVA/5_Knji%C5%BEnica/Tehnoloska-navodila-EKOPoljiscine2017popravek19072017.pdf (7.8.2017)
- Yusuf, Y., Durdane, Y., Sevet, A. 2005. Antifungal activity of Turkish propolis against *Phytophthora* species. *Plant Pathology Journal*, 4: 58-60.